

University of Groningen

Tumor cell survival and immune escape mechanisms in classical Hodgkin lymphoma

Liang, Zheng

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2015

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Liang, Z. (2015). *Tumor cell survival and immune escape mechanisms in classical Hodgkin lymphoma*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. [S.n.].

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Nederlandse samenvatting

中文摘要

Biography

Acknowledgements

Nederlandse samenvatting

Het klassieke Hodgkin lymfoom (HL) is een B cel lymfoom waarin een klein aantal tumor cellen, de Hodgkin Reed-Sternberg (HRS) cellen, verspreid liggen in een reactieve achtergrond. De nodulair lymfocytenrijke vorm van (NLP)HL bestaat ook voor een minderheid uit tumor cellen, de LP cellen, met daarom heen een overmaat aan reactieve cellen. Deze reactieve cellen zorgen voor een micromilieu dat bijdraagt aan de groei en overleving van de tumor cellen. HRS cellen zijn afkomstig van kiemcentrum B cellen die hun B cel fenotype, inclusief de expressie van immuunglobuline genen, zijn kwijtgeraakt. Alhoewel kiemcentrum B cellen die functionele immunoglobulines missen normaal gesproken apoptose ondergaan, kunnen HRS cellen aan deze geprogrammeerde celdood ontsnappen. Naast de constitutieve activatie van NF- κ B en de JAK/STAT signaleringen, die beide kenmerkend zijn voor HL, brengen HRS cellen ook verschillende receptor tyrosine kinases (RTK) tot expressie die niet op normale B cellen voorkomen. Deze factoren dragen bij aan de overleving en groei van HRS cellen. In dit proefschrift wordt de expressie en relevantie van bekende en nieuwe moleculen die mogelijk een rol spelen in the ontwikkeling van HL onderzocht om nieuwe overlevings- en ontsnappingsmechanismes te identificeren.

Insuline-like groeifactor -1 receptor is een prognostische factor in HL

De receptor voor insuline-like groeifactor-1 (IGF-1R) is een RTK die in veel tumoren tot expressie komt en die een cruciale rol speelt in celgroei, transformatie, bescherming tegen apoptose en resistentie tegen chemotherapie. In hoofdstuk 2, onderzoeken we de expressie, prognostische waarde, functie en signaleringsroute van IGF-1R in HL.

In 55% van de HL patiënten vonden we expressie van IGF-1R. Het percentage van IGF-1R positiviteit was hoger in het nodulair scleroserende subtype van HL (38/61 gevallen), vergeleken met het gemengdcellige subtype (1/9 gevallen). De 5 jaars

ziektevrije overleving was 93% in de IGF-1R positieve patiënten en 77% in de IGF-1R negatieve patiënten groep ($p=0.047$). We vonden verschillen in de expressie van IGF-1R in drie HL cellijnen, met de hoogste expressie waarden in L428 cellen. De hoeveelheid IGF-1 in kweeksupernatant van de drie cellijnen was vergelijkbaar. Behandeling met IGF-1 had het meeste effect op de celgroei van L428 cellen. Dus L428 cellen waren het meest gevoelig voor IGF-1 wat overeenkomt met de hogere IGF-1R expressie. Behandeling met de IGF-1 remmer, picropodophylline (PPP), resulteerde in een afname van de celgroei en het aantal levende cellen in alle drie HL cellijnen, met wederom het sterkste effect in L428 cellen. Behandeling met PPP veroorzaakte een duidelijke toename in het aantal cellen in de G2/M fase waren, wat duidt op een blokkering van de celcyclus in de G2/M fase. Overeenkomstig met bevindingen in andere kankercellijnen zagen we verhoging van de fosforylatie van IGF-1R, AKT en ERK1/2 na stimulatie met IGF-1. Behandeling met PPP in L428 remde de fosforylatie van IGF-1R en AKT, terwijl ERK1/2 fosforylatie was toegenomen.

Ons onderzoek geeft aan dat IGF-1R een prognostische marker is voor HL en dat IGF-1R mogelijk ook een rol speelt bij de pathogenese door het stimuleren van de tumorcel groei.

Expressie patronen van de Efrine familie in HL

De Efrine familie is de grootste RTK familie en er is de laatste jaren steeds meer interesse in de rol van deze RTK familie bij de pathogenese van kanker. In hoofdstuk 3 hebben we de expressie van de Efrine familie in HL onderzocht. Op mRNA niveau konden we expressie van 17 van de 21 familieleden aantonen in tenminste 1 van de 8 HL cellijnen. Daarnaast hebben we in weefsel van 2 HL en 2 NLPHL patiënten mRNA expressie gevonden van verschillende familieleden. Dit geeft aan dat de cellen in het micromilieau ook Efrine familieleden tot expressie brengen. Vervolgens hebben we expressie van vijf Efrine familieleden, EphA1, EphA3, efrine-A3, efrine-A4 en efrine-B1, onderzocht met immunohistochemie.

Verschillende expressie patronen werden gevonden in primair weefsel van HL en NLP HL. In NLP HL kwamen EphA3, efrine-A4 en efrine-B1 tot expressie in tumor cellen van alle patiënten, EphA1 kwam tot expressie in een deel van de patiënten en efrine-A3 kwam niet tot expressie. In klassiek HL kwamen EphA3, efrine-A3, efrine-A4 en efrine-B1 in de tumorcellen van een groot deel van de patiënten tot expressie, terwijl EphA1 in alle gevallen negatief was in de tumorcellen. Naast expressie in de tumorcellen vonden we EphA3, efrine-A4 en efrine-B1 positieve cellen in het micromilieu van klassiek HL en EphA1 expressie op de lymfocyten rondom de tumor cellen in NLP HL. Deze resultaten geven aan dat er een mogelijke rol is voor de Efrine familie in de pathogenese van HL.

De rol van Toll-like receptoren in de pathogenese van humane B cel lymfomen

Toll-like receptoren (TLRs) zijn de eerste linie van verdediging tegen microbiële infecties door de herkenning van pathogeen geassocieerde moleculaire patronen. Ze activeren de aangeboren immuniteit en moduleren de verworven immuniteit. In hoofdstuk 4 reviewen we de recente bevindingen over de rol van TLRs in de pathogenese van B cel lymfomen en bespreken hun rol in maligne transformatie, tumorgroei en ontwijken van de immuun reactie. Langdurige triggering van TLRs kan leiden tot somatische mutaties door de chronische activatie van naïeve B cellen of door de inductie van een inflammatoir micromilieu dat de inductie van mutaties toelaat/stimuleert. In de tweede plaats kunnen TLRs NF- κ B activatie wat bijdraagt aan de overleving van voorloper cellen door promoten van celgroei en blokkeren van apoptose. Verder kunnen maligne B cellen een immuun onderdrukkend micromilieu induceren door de stimulatie van specifieke TLRs op reactieve cellen.

In hoofdstuk 5 hebben we gekeken naar de expressie van TLRs in 8 HL cellijnen en in primaire HL weefsels. Op mRNA niveau hebben we TLR1, TLR2, TLR6, TLR7, TLR9 en TLR10 aangetoond in alle cellijnen in verschillende hoeveelheden. TLR4 en TLR9 vonden we op eiwitniveau terug in een groot deel van de HL patiënten. De cellijnen

reageerden minimaal op ligatie van TLR7 en TLR9 op het niveau van celgroei. Het is duidelijk dat TLRs een belangrijke rol spelen bij verschillende aspecten van B cel lymfomen, echter er is nog meer onderzoek nodig om de rol bij HL op te helderen.

Immuun ontsnapingsstrategieën in Epstein Barr virus geassocieerde HL en ongedifferentieerd nasofarynxcarcinoom

Epstein Barr virus (EBV) is geassocieerd met de ontwikkeling van verschillende kanker types zoals HL, Burkitt lymfoom en ongedifferentieerd nasofarynxcarcinoom (NPC). In HL is EBV aanwezig in 30 tot 60% van de gevallen en het percentage is afhankelijk van ras en geografische locatie. NPC heeft een hoge incidentie in Zuid Oost Azië en bevat in alle gevallen EBV. Beide types kanker hebben een latentie type II infectie patroon, met expressie van latent membraan eiwit 1, latent membraan eiwit 2 en EBV kern antigeen 1. Hoewel er maar een beperkt aantal EBV eiwitten tot expressie komt in beide kanker types is het ontsnappen aan gastheer anti-tumor reacties essentieel voor de overleving van EBV positieve tumorcellen. De tumorcellen kunnen hiervoor verschillende ontsnapingsmechanismen gebruiken. Verlies van expressie van HLA klasse I en HLA klasse II is een van de meest voorkomende mechanismen in de pathogenese van EBV geassocieerde kankers. Het voorkomen van de binding van antigene peptiden door behoud van CLIP peptiden in de antigeen bindende groeve van HLA klasse II is een ander mechanisme. HLA-DM is het eiwit dat in de endosomen zorgt voor de dissociatie van het CLIP peptide van HLA klasse II, waardoor antigene peptiden kunnen binden. HLA-DO is een niet klassiek HLA eiwit dat een stabiel complex met HLA-DM vormt en de functie van HLA-DM kan blokkeren. In hoofdstuk 6 hebben we geprobeerd de vraag te beantwoorden welke van de ontsnapingsmechanismen worden gebruikt door de tumorcellen in deze 2 kankertypes. We hebben de expressie van CLIP, HLA-DM, HLA-DO getest in een selectie van HLA klasse II positieve HL patiënten. In NPC patiënten hebben we gekeken naar de expressie van HLA klasse I, HLA klasse II, HLA-DM en HLA-DO. In een deel van HLA klasse II positieve HL patiënten was de afwezigheid van HLA-DM

geassocieerd met de aanwezigheid van CLIP op de membraan. Behoud van CLIP en het blokkeren van de presentatie van antigene peptiden is dus een mechanisme dat HRS cellen gebruiken in een deel van de HL patiënten. De expressie van HLA-DO, dat normaal alleen in B cellen tot expressie komt, was niet geassocieerd met de expressie van HLA-DM of CLIP. In NPC patiënten vonden we verlies van HLA klasse I in 2 van de 11 patiënten en verlies van HLA klasse II in een deel van de tumorcellen in de helft van de gevallen. De tumor cellen brachten vergelijkbare hoeveelheden HLA klasse II, HLA-DM en HLA-DO tot expressie, dus het is mogelijk dat HLA-DO interfereert met de functie van HLA-DM.

Terwijl in HL verlies van HLA-DM was geassocieerd met de aanwezigheid van CLIP op de membraan, waren in NPC HLA-DM en HLA-DO beide aantoonbaar en is er mogelijk een ander mechanisme om de functie van HLA klasse II te blokkeren.